

## 家蚕DNA诱导蓖麻蚕产生无洞茧\*

张汉云、胡钧、杨连玺、叶文娟、黄生民

(中国科学院昆明动物研究所)

异源DNA诱导遗传性变异的研究,近年来受到广泛的重视。周光宇教授经过广泛的实地调查,认为远缘DNA片段在母本DNA复制过程中,有可能被重组而使子代出现变异。因而她提出了常规远缘杂交中,存在着DNA片段杂交的假设(周光宇等,1979),我们曾用家蚕DNA或DNA蛋白,分别注入蓖麻蚕幼虫体内,结果后代发生了幼虫皮肤性状的改变(陈元霖等,1981)。本文报告我们用家蚕DNA诱导蓖麻蚕产生无洞茧的试验结果。

### 材料与方 法

受体,蓖麻蚕(*Attacus cynthia rinica*),白血系统姬蚕品系(素白)。茧为蓖麻蚕正常茧形,一端开口(见照片左侧)。

供体,家蚕(*Bombyx mori*),幼虫具黑缟斑、虎斑、黄血等显性性状。茧为黄色椭圆形,具茧钩(见照片右侧)。

DNA制备,参照Marmur (1961)方法,并经过改进。将蚕蛹在 $-20^{\circ}\text{C}$ 预冷后,加入少量SSC-EDTA溶液( $0.15\text{M}$  NaCl,  $0.015\text{M}$  柠檬酸钠,  $0.01\text{M}$  乙二胺四乙酸钠),快速匀浆、离心后,沉淀悬浮在 $10\times\text{SSC}$ 中,加入 $1/10$ 体积 $25\%$  SDS(十二烷基硫酸钠),使最终浓度为 $2.5\%$ 。振荡后在 $60^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温10分钟,再加入 $1/5$ 体积 $5\text{M}$   $\text{NaClO}_4$ 和等体积氯仿-异戊醇(24:1),振荡30分钟后离心,收集水相,加入1.5倍体积冷酒精,用玻璃棒缠绕DNA丝状沉淀,经酒精梯度脱水和丙酮脱水后,再真空干燥得DNA粗品。经二苯胺显色反应测定,粗品中含DNA。

样品注射,上述DNA粗品溶于含 $0.005\text{M}$ 乙二胺四乙酸钠的生理盐水溶液中,以玻璃注射器注入蓖麻蚕蛹内,每头蛹 $0.05$ 毫升,含DNA $60$ 微克。以蓖麻蚕蛹DNA和不含有DNA的注射液分设两个对照组。

丝素蛋白氨基酸分析,将蚕茧浸泡在 $0.2\%$ 丝光皂及 $0.05\%$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液中,以

该项研究得到云南省蚕科所杨碧楼所长支持,本文承陆星垣教授审阅,修改,特此感谢。本文1982年4月27日收到。

1:100浴比煮沸三小时,再重复处理一次,脱去丝胶蛋白,充分水洗后吹干,置脂肪抽提器中用乙醚除去脂溶性物质,得到丝素蛋白。取丝素蛋白6毫克,置安瓿瓶中,加入0.6毫升6N盐酸,充氮气后封管,放在110°C恒温箱中水解24小时,打开安瓿用氮气吹干,用日立835—50型氨基酸分析仪测定氨基酸组成。

## 结果与讨论

试验组和两个对照组各取蓖麻蚕蛹雌雄各25头,当代注入家蚕DNA的蓖麻蚕蛹,及这些蛹化成的蛾子,未发现任何变异。同试验组雌雄蛾进行交配,所产后代( $F_1$ ),各组幼虫均未发现变异。然而注射家蚕DNA的试验组得到2707颗蓖麻蚕茧,其中发现4颗无洞茧,无洞茧的特征为,茧两端无洞,茧壳表面出现茧绉,类似家蚕茧(见照片中部)。注射蓖麻蚕蛹自身DNA的对照组,得蓖麻蚕茧2367颗,注射不含DNA的空白对照组得到蓖麻蚕茧3183颗,均为一端不封口的蓖麻蚕茧。

上述产生的无洞茧的蛹化蛾后,将一对雌雄蛾相互交配,另一雌蛾与同组非无洞茧的雄蛾进行交配,共得子二代( $F_2$ )幼虫543头,其中486头幼虫结茧化蛹,未发现任何变异,也未出现无洞茧。

为了进一步查明,这种变异的无洞蓖麻蚕茧的丝质是否发生变异?我们将蓖麻蚕茧、家蚕茧及无洞蓖麻蚕茧,经除去丝胶蛋白后,对其三种丝素蛋白进行氨基酸组成分析。结果见附表。

附表:蓖麻蚕茧、家蚕茧及无洞蓖麻蚕茧丝素蛋白氨基酸组成比较(克/100克丝素)

丝素样品		家蚕茧	蓖麻蚕茧	无洞蓖麻蚕茧
氨	甘氨酸	34.84	25.83	24.14
	丙氨酸	27.54	42.34	39.10
	丝氨酸	10.30	6.12	5.85
	酪氨酸	9.53	11.16	10.49
	天门冬氨酸	1.82	5.08	4.71
基	谷氨酸	1.60	1.19	1.12
	苏氨酸	0.92	0.51	0.49
	缬氨酸	2.64	0.68	0.68
	脯氨酸	1.16	1.38	1.98
酸	甲硫氨酸	0.08	/	0.06
	异亮氨酸	0.69	0.40	0.38
	亮氨酸	0.39	0.25	0.21
	苯丙氨酸	1.14	0.42	0.34
名	赖氨酸	/	/	/
	组氨酸	0.30	2.22	2.05
	精氨酸	0.60	3.10	2.74
	脯氨酸	0.29	0.26	/
	称			

附表数据与文献报导(匡达人, 1963; Alain, 1979)相一致。结果表明, 无洞蓖麻蚕茧的丝素蛋白与正常蓖麻蚕不封口茧的丝素蛋白相比较, 它们的氨基酸组成基本相同。因为家蚕丝素蛋白和蓖麻蚕茧的丝素蛋白, 都有很高的甘氨酸和丙氨酸含量, 但家蚕丝素蛋白的甘氨酸含量高于丙氨酸, 而蓖麻蚕丝素蛋白则丙氨酸含量高于甘氨酸, 这是家蚕丝素蛋白区别于蓖麻蚕的主要特点。

蓖麻蚕产生无洞茧这一性状, 在天然条件下确偶有发生。我们所用受体蓖麻蚕在云南省蚕桑研究所经过八年饲养, 繁殖60个世代以上, 观察了百万以上的个体, 自然产生无洞茧的个体在万分之一以下, 而且自然产生的无洞茧均为薄皮茧, 茧形很不正常, 更不可能在茧壳上出现茧绉。因此我们认为试验结果是可靠的。

用家蚕DNA诱导蓖麻蚕遗传性变异的研究, 从1979年以来, 我们共进行了七批试验。在第三批试验中产生了无洞的蓖麻蚕茧, 变异频率均为千分之二左右。第一批产生的无洞蓖麻蚕茧的蛹死亡未得后代, 而第二批和本批试验产生无洞茧的蓖麻蚕蛹虽然得到了后代, 但产生无洞茧这一性状未能遗传下来。我们认为可能是家蚕产生无洞茧的基因片段, 并没有重组进蓖麻蚕的基因组中, 因而在 $F_1$ 代出现的这一变异性状, 不能继续遗传下去。

### 参 考 文 献

- 周光宇、龚震、王自芬 1979 远缘杂交的分子基础——DNA片段杂交假设的一个论证。遗传学报 第6卷, 第4期。
- 陈元霖、郑子修、张汉云等 1981 蚕类DNA诱导遗传性变异的研究——家蚕DNA对蓖麻蚕的诱变作用。中国科学 1981年第9期
- 匡达人等 1963 几种蚕丝的比较研究。蚕业科学 第1卷第1期
- Marmur 1961 A Procedure For The Isolation of Deoxyribonucleic Acid From Micro-organisms. *J. Mol. Biol.* 3:208.
- Alain Fournier 1979 Quantitative Data On The *Bombyx mori* L. Silkworm, A review. *Biochimie* 61:283.

## *BOMBYX MORI* DNA INDUCED THE HOLELESS COCOON IN *ATTACUS CYNTHIA RICINI*

Zhang Hanyun   Wu Jun   Yang Lianxi  
Ye Wenjuan Huang Shengmin

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica*)

*Bombyx mori* DNA was injected into the body cavity of *Attacus cynthia ricini* pupae. It was found <sup>that</sup> a small fraction of holeless cocoons appeared in the latter's progenies (F<sub>1</sub>). Amino acid contents of fibroin of holeless cocoon, *B. mori* cocoon and *Attacus cynthia ricini* cocoon were compared. Amino acid contents of holeless cocoon fibroin seemed to be the same as <sup>those</sup> that of *Attacus cynthia ricini* cocoon.